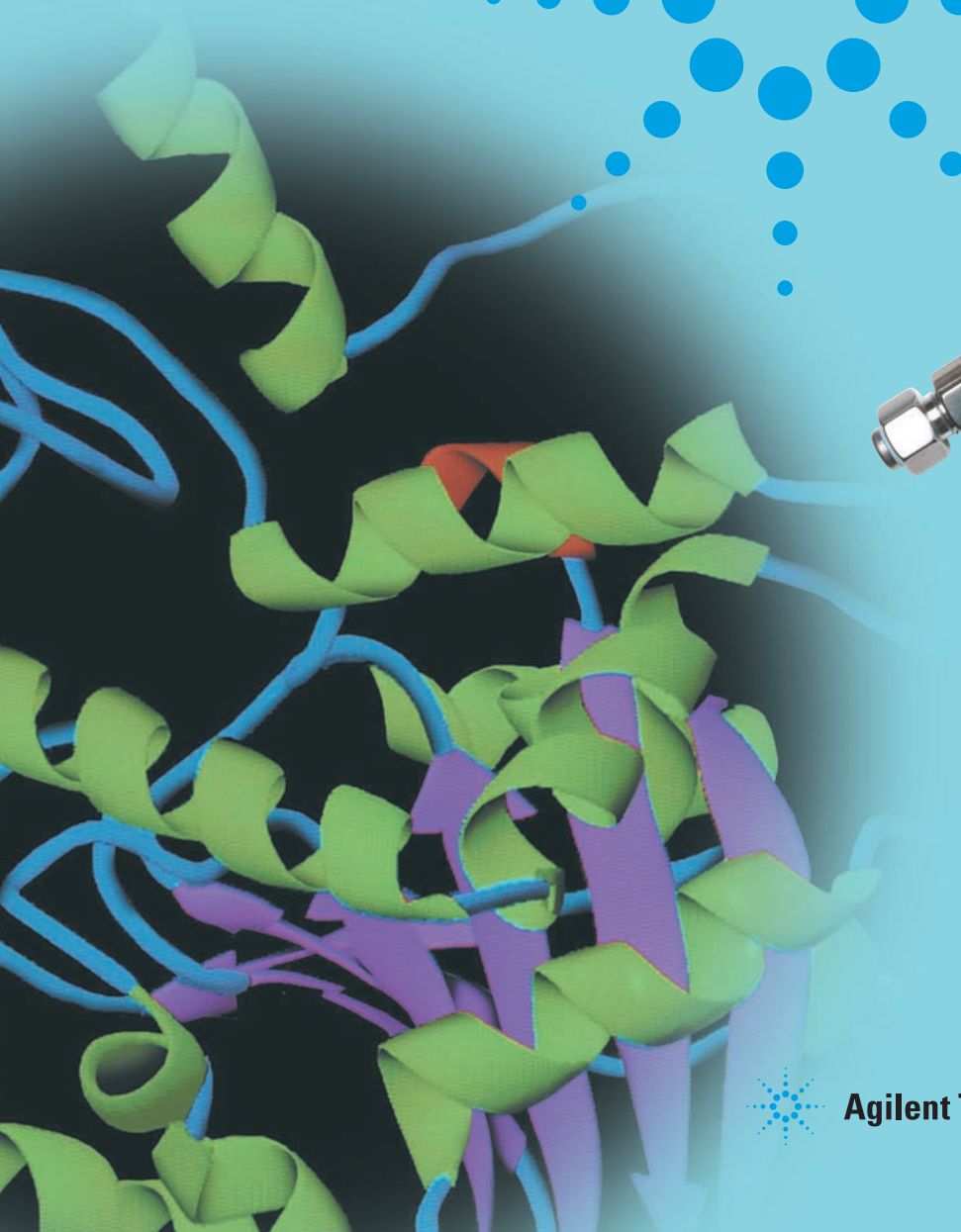
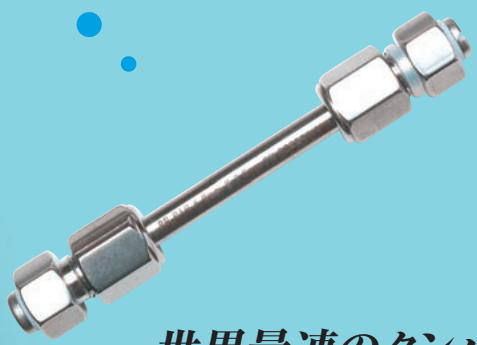
# Agilent ZORBAX HPLCカラム Poroshell 300SB-C18

## 高速・高分解能タンパク質分離用





*世界最速のタンパク質分離を実現!!*

Agilent Technologies

Bulletin16C0B4
2001.7発行

## 世界で最高速のタンパク質分離を実現

# タンパク質の高速・高分解能分離を実現する新製品：Poroshell 300SB-C18

プロテオミクスとタンパク質化学の分野では、今まさに新しい発見と革命が起こりつつあります。ここにまたタンパク質分離のための画期的なツールが誕生しました。それが Poroshell 300SB-C18（図1）です。硬質コアを多孔質シリカの薄層で覆った Poroshell 300SB-18（図2）は、タンパク質を分または秒の単位で高分解能分離して分析速度を向上します（図3, 5, 6）。信頼性に優れ、比類ないカラム安定性（図4B）で定評のある StableBond C18（特許取得）を結合（図4A）させた Poroshell 300SB-18 は、例え高温条件であってもブリードを最小に抑えて分離できる能力を持ち、超高速でクリアーなMSシグナルを得ることができます。

ユニークな粒子構造を持つ Poroshell 300SB は圧力損失が低いため、高い流速での分離が可能です。Poroshell 300SB は、ユーザーがプロテオミクスとタンパク質分析を征服するための強力なツールを提供します。

図1　Poroshell粒子の走査型電子顕微鏡写真

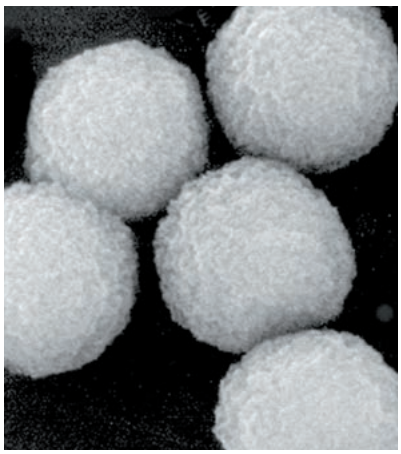
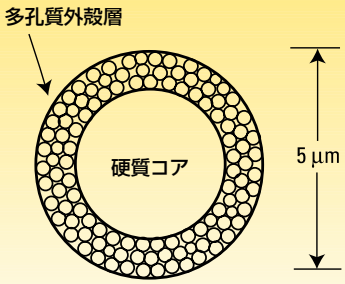


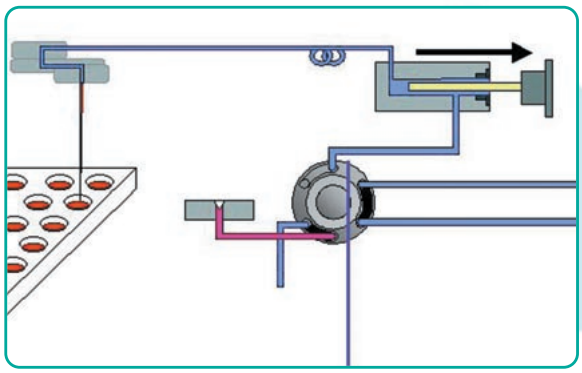
図2　高流速で高効率を実現




Poroshell 300SB-C18 粒子は、表層部分だけが多孔性を持つ革新的なクロマトグラフ メディアです。この特性によりタンパク質、DNA、その他の高分子の逆相 HPLC による高速、高分解能分離が可能になりました。薄層多孔性外殻への出入りを伴う物質移動が高速である Poroshell は、特に高分子の高分解能分離に適しています。全体が多孔性である粒子では高分子のたどる経路がより長くなるため、物質移動の速度が遅くなります。

The Agilent 1100 LC/MSD

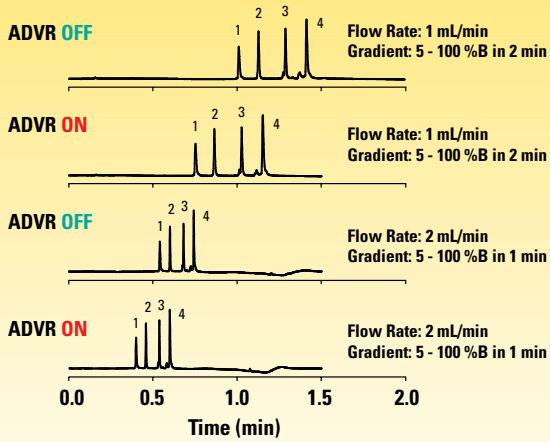
図7　Poroshell カラムと Agilent 1100 のウェルプレート サンプラー(WPS)を組み合わせてオーバーラップ注入を行うことにより、更に迅速に分析結果を得ることができます。



ADVR(Automatic Delay Volume Reduction)機能を使用して分析実行中に次のサンプル吸入を行う(オーバーラップ モード)と、前回の分析実行中に次のサンプルの導入(ローディング)を済ませることができます。

ウェルプレート サンプラーを備えた Agilent 1100 は、96 サンプルまたは 384 サンプルのウェルプレートを使用できます。

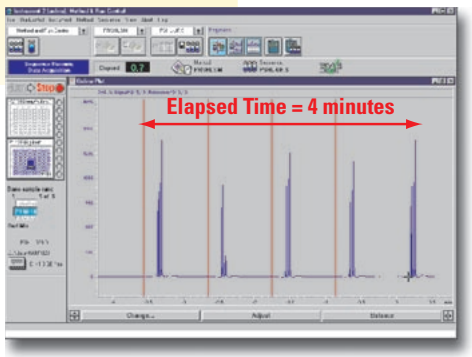
図8　Poroshell 300SB-C18 とオーバーラップ注入を使用した高スループットタンパク質分析




Agilent 1100 DAD
Agilent 1100 WPS with ADVR
Column: **Poroshell 300SB-C18**
2.1 x 75 mm, 5 µm
Mobile Phase:
A: 95% $H_2O$, 5% ACN with 0.1% TFA
B: 5% $H_2O$, 95% ACN with 0.07% TFA
Temperature: 70°C
Detector: UV 215 nm
Sample:
1. Neurotensin
2. RNaseA
3. Lysozyme
4. Myoglobin

デフォルトでは注入容積の5倍のキャリアでループを洗浄します。ダンパー容量は使用圧力により180 - 480µLの範囲で変化します。

*"Instrument-Column Synergy in Optimizing Reversed-Phase HPLC Analysis of Protein and Peptides"*, ISPPP 2000, Ricker, R.D. and B.E. Boyes, Agilent Technologies, Inc.




上に示す例では、Agilent 1100 のウェルプレートサンプラーと AVDR を組み合わせて使用することにより、約 20% の分析時間短縮を実現しました。

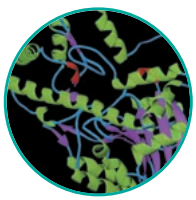
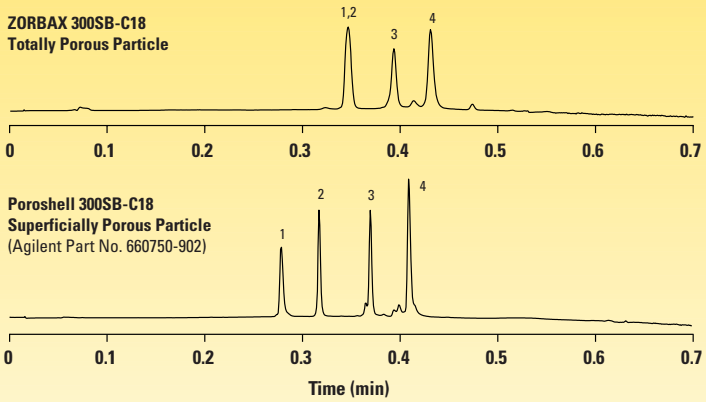


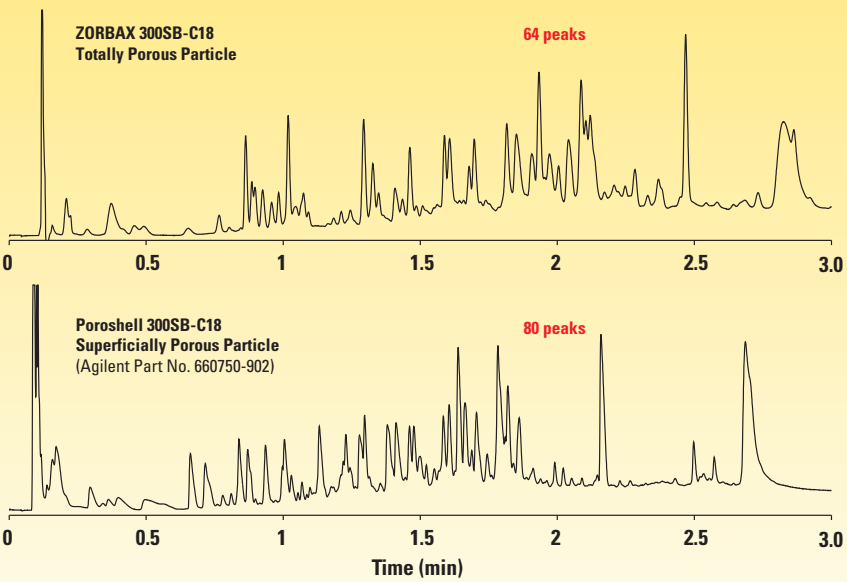
図5　全多孔性の粒子と比較して Poroshell は高い分解能を示します。




Column: 300SB-C18
2.1 x 75 mm, 5 µm
Mobile Phase:
Gradient: 5 - 100% B in 0.67 min.
A: 95% $H_2O$, 5% ACN with 0.1% TFA
B: 5% $H_2O$, 95% ACN with 0.07% TFA
Flow: 3.0 mL/min
Temperature: 70°C
Detector: UV 215 nm
Sample: 200 µg each
1. Neurotensin 3. Lysozyme
2. RNaseA 4. Myoglobin

全多孔性粒子を高流速で使用するとピークが広がりますが、Poroshell ならば低流速と同じシャープなピーク形状を維持します。

図6　Poroshell 300SB ならば今まで得られなかった情報が得られ、しかも迅速です
ペプチド消化物をわずか3分間で分離

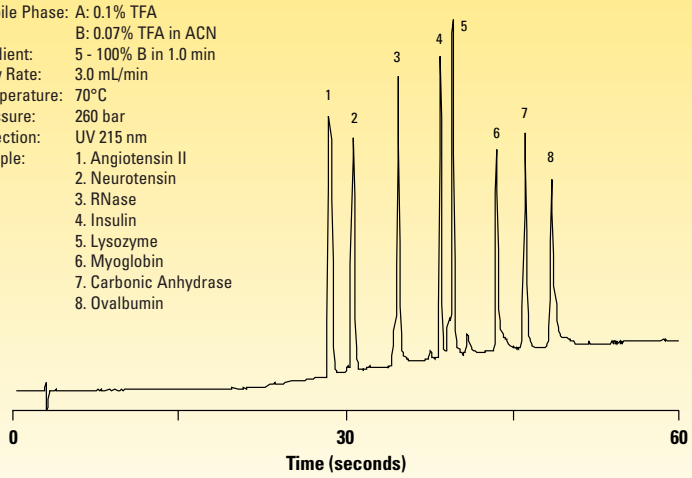



Column: 300SB-C18
2.1 x 75 mm, 5 µm
Mobile Phase:
Gradient: 0 - 100% B in 6 min.
A: 0.1% TFA, $H_2O$
B: 0.07% TFA, ACN
Flow: 2.0 mL/min
Temperature: 70°C
Detector: UV 206 nm
Sample: 10 µL injection

Poroshell は高流速分析でペプチド消化物をより多くのピークに分離します。

図3　Poroshell 300SB-C18 を用いたペプチドとタンパク質の高速、高分解能分離
秒刻みで分離ピークが現れます。

Column: Poroshell 300SB-C18
2.1 x 75 mm
Mobile Phase: A: 0.1% TFA
B: 0.07% TFA in ACN
Gradient: 5 - 100% B in 1.0 min
Flow Rate: 3.0 mL/min
Temperature: 70°C
Pressure: 260 bar
Detection: UV 215 nm
Sample: 1. Angiotensin II
2. Neurotensin
3. RNase
4. Insulin
5. Lysozyme
6. Myoglobin
7. Carbonic Anhydrase
8. Ovalbumin

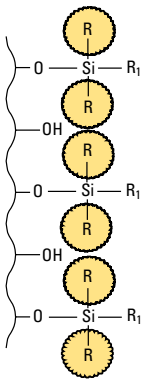



溶質ピーク間の明瞭な分離から、余裕のあるピークキャパシティが複雑なサンプルの高速分離を可能にします。

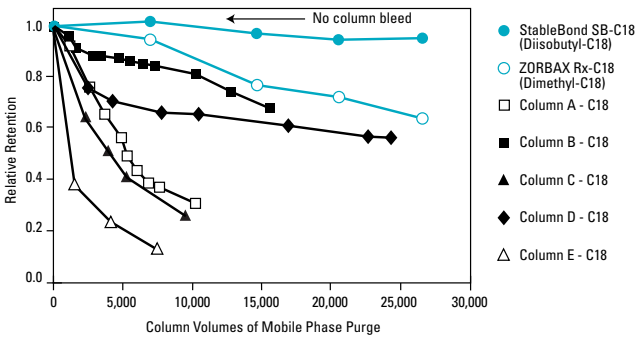
*Kirkland, J.J., Journal of Chromatographic Science,* 38 (2000) 535-544.

図4　StableBond の化学的特性を利用して低pH領域でのカラム ブリードを最小限に抑えた
Poroshell 300SB-C18 は LC/MS 分析に最適です。

**A.**




**B. StableBond Stability Test**




Kirkland, J.J. and J.W. Henderson, *Journal of Chromatographic Science,* 32 (1994) 473-480.

低pH領域では、シロキサン結合の加水分解によって逆相結合相のシリカが分解を起こします（図4A）。しかし、StableBond RP-HPLC 結合化学では、上図に示すバルキーな側鎖を有するシラン基の導入によってこの分解をほぼ完璧に防止します。

Poroshell 300SB-C18 は、 ZORBAX SB や 300SB が多くの用途に使用して確かな実績を持つ StableBond 表面技術を応用しています。 StableBond カラムならば、難しいサンプルの低pH領域での分離にも卓越した安定性を示します – しかも昇温条件での分離が可能です。

## Poroshell 300SB-C18の特徴、利点、および効果

| 特　徴 | 利　点 | 効　果 |
|---|---|---|
| 硬質コアの表面をユニークな300Å 多孔質層で被覆 | 速い反応速度 | タンパク質を含む高分子化合物の高速、高分解能分離 |
| 5μ粒子の使用 | 低い圧力損失(背圧) | 高圧を必要とせずに迅速分離を実現 |
| StableBond 技術の使用 | 低pH領域で非常に優れた安定性 | 低pH領域での長いカラム寿命 |
| | | 低pH領域でのタンパク質分離の再現性に優れ、カラム間やバッチ間での変動が小さい |
| | 高温度領域での非常に優れた安定性 | 昇温による分析時間の短縮が可能 |
| | | 温度の違いによる選択性の差を利用できる |
| 高純度 Zorbax Rx-Sil ゾルの使用 | 低い酸性度(金属元素含有量が少ない) | 優れたピーク形状 |
| | 5μ粒子 | 高分解能 |
| | 機械的強度が高く高圧充てんが可能 | 優れた分解能<br>高耐久性 |

# 遅れをとってはいけません!

## プロテオミクスのための画期的なRP-HPLC カラム Poroshell 300SB-C18を今すぐご用命ください。

### Poroshell 300SB-C18 カラム

| カラムの説明 | 寸法 (mm) | 粒径 (μm) | 部品番号 | 価格 (円) |
|---|---|---|---|---|
| Poroshell 300SB-C18 Analytical | 2.1 x 75 | 5 | 660750-902 | 88,000 |

お客様の具体的なタンパク質分析、分離のニーズについて横河アナリティカルシステムズ株式会社にお問い合わせください。タンパク質分析用の重要なHPCL カラムとしてこの他にZORBAX 300SB(StableBond)C18、C8、C3、およびCN、 ZORBAX 300Extend-C18などの製品を用意しています。
Poroshell 300SBと他のZORBAX カラムはすべてAgilent 1100 LCとAgilent 1100 キャピラリ LCにPerfectFitします。

製薬・バイオ分野向けのZORBAXカラムカタログとして「逆相HPLCにおけるペプチド/タンパク質のメソッド開発法とカラム選択ガイド Bulletin:16C0B3　2001年6月」が発行されています。ご希望の方は、横河アナリティカルシステムズ株式会社、または弊社代理店にお問い合わせください。

本冊子に記載の情報、説明および仕様は製品改良のため予告なく変更されることがあります。

July 25, 2001
Publication Number 5988-2101JAJP

横河アナリティカル システムズ株式会社

●カストマサービスセンター
1）システム、製品および部品に関するご相談窓口
2）製品の操作、アプリケーションの問合せおよび故障時の連絡窓口
3）ユーザートレーニングの申し込み窓口

0120-477-111

本　　社　〒180-8543 東京都武蔵野市中町1-15-5
ホームページ　http://www.agilent.co.jp/chem/yan

ANC-36

●横河アナリティカルシステムズ　取扱店一覧　下記の代理店の分析計担当部署にお問い合せください。

| 代理店名 | 住　所 | 電　話 |
|---|---|---|
| 美和電気工業・札幌 | 札幌市北区北20条西7-20 | 011-737-1151 |
| 美和電気工業・盛岡 | 盛岡市前九年3-19-52 | 019-646-4341 |
| 美和電気工業・仙台 | 仙台市太白区長町南3-37-13 | 022-249-8103 |
| 美和電気工業・福島 | 福島市腰浜町20-14 | 0245-31-6320 |
| 相生電気・北関東 | 熊谷市銀座4-10-8 | 0485-24-7234 |
| 相生電気・群馬 | 高崎市江木町1720-1 | 027-326-1180 |
| 相生電気・小山 | 小山市稲葉郷285-1 | 0285-23-8088 |
| 太陽計測・つくば | つくば市大字上ノ室2074 | 0298-57-2452 |
| 東京電機産業・新潟 | 新潟市紫竹山7-4-32 | 025-244-6171 |
| 東京電機産業・千葉 | 千葉市稲毛区作草部1-19-3 | 043-252-6012 |
| 西川計測(株) | 港区三田3-13-16　三田43森ビル | 03-3453-1337 |
| 西川計測・横浜 | 横浜市中区長者町5-85 | 045-242-4162 |

| 代理店名 | 住　所 | 電　話 |
|---|---|---|
| 協立電機(株) | 静岡市中田本町61-1 | 054-288-8880 |
| 横河商事・中部 | 名古屋市中村区烏森町7-336 | 052-471-7124 |
| 横河電陽(株) | 富山市永楽町32-13 | 0764-41-1831 |
| 金陵電機(株) | 大阪市淀川区新高3-3-11 | 06-6394-1163 |
| 旭電気(株) | 倉敷市老松町3-7-10 | 086-422-5711 |
| 新川電機・広島 | 広島市中区東平塚3-30 | 082-247-6447 |
| 新川電機・高松 | 高松市伏石町672-1　丸忠第2ビル | 087-868-6600 |
| 新川電機・西中国 | 徳山市五月町10-45 | 0834-21-2788 |
| 新川電機・九州 | 福岡市博多区博多駅南2-11-12 | 092-451-1747 |
| 西川計測・大分 | 大分市高城本町5-3 | 0975-58-0856 |
| 西川計測・熊本 | 熊本市山崎町66-7　栄泉中央ビル | 096-355-5500 |

本書の一部または全部を無断複製することは禁止されています。

〔記載内容は,お断わりなく変更することがありますので,ご了承ください。〕

Printed in JAPAN：3.JUL.25.2001(M)